10.22092/sppi.2022.126276

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۷، شماره ۳، سال ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

تنوع آللی در مکان‌های ژنی مربوط به بهاره‌سازی و ارتباط آن با عادت رشد در مزرعه لاین های امیدبخش گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

Allelic Variation in Vernalization Loci and Its Relationship with Field-Based Growth Habit of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Promising Lines

علی قربانی[۱]، حبیب اله قزوینی[۲]، رقیه امینیان[۳]، سید شهریار جاسمی[۴] و اشکبوس امینی[۵]

۱-دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۲- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران.
۴ و ۵- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵

چکیده

قربانی، ع.، قزوینی، ح.، امینیان، ر.، جاسمی، س. ش. و امینی، ا. ۱۴۰۰. ارزیابی تنوع آللی در مکان‌های ژنی مربوط به بهاره‌سازی و ارتباط آن با عادت رشد در مزرعه لاین های امیدبخش گندم نان (*Triticum aestivum* L.). **مجله نهال و بذر ۳۷:** ۲۹۲-۲۶۷.

گندم نان یکی از مهمترین گیاهان زراعی است که در سراسر جهان کشت می‌شود و سازگاری گسترده‌ای با شرایط اقلیمی مناطق مختلف دارد. یکی از عوامل مهم این سازگاری نقش ژن‌های بهاره‌سازی در ژنوتیپ‌های مختلف گندم نان می‌باشد و شناسایی تنوع آللی این ژن‌ها امکان تعیین عادت رشد، پیش‌بینی سطح تحمل سرما و سازگاری ژنوتیپ‌ها در اقلیم‌های مختلف را فراهم می‌سازد. در این پژوهش، ارزیابی عادت رشدی ۴۰ ژنوتیپ امیدبخش گندم نان در طی دو سال (۱۳۹۹ و ۱۴۰۰) در اواخر اردیبهشت در مزرعه و یک سال در گلخانه انجام شد و همچنین تنوع آللی موجود در مکان‌های ژنی *VRN-1* و *VRN-3* با استفاده از نه جفت آغازگر اختصاصی تعیین گردید. در مکان ژنی *VRN-A1*، آلل‌های *Vrn-A1a*، *Vrn-A1b*، *Vrn-A1c* و *vrn-A1* بترتیب دارای فراوانی ۷/۵ درصد، ۷/۵ درصد، ۱۰ درصد و ۶۷/۵ درصد بودند. در این مکان ژنی سه ژنوتیپ فاقد باند بودند. در مکان ژنی *VRN-B1*، آلل‌های غالب و مغلوب بترتیب دارای فراوانی ۵۲/۵ درصد و ۴۷/۵ درصد و در مکان ژنی *VRN-D1*، این آلل‌ها به ترتیب دارای فراوانی‌های ۶۰ درصد و ۴۰ درصد بودند. در مکان ژنی *VRN-3* اکثریت ژنوتیپ‌ها (۹۷/۵ درصد) دارای آلل *vrn-B3* بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که آلل‌های مختلف مکان ژنی *VRN-A1* نسبت به دو مکان ژنی *VRN-B1* و *VRN-D1* نقش مهمتری در ایجاد تنوع عادت رشدی داشتند و ترکیب‌های مختلف این آلل‌ها منجر به ایجاد طیف متنوعی از عادت رشدی بهاره کامل تا زمستانه کامل شد. نتایج این پژوهش می‌تواند در برنامه های به نژادی گندم نان برای تجمیع آلل‌های مطلوب ژن‌های بهاره‌سازی برای تولید ژنوتیپ‌های گندم سازگار با شرایط اقلیمی مناطق مختلف کشور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، آلل غالب، آلل مغلوب، ژن‌های بهاره‌سازی، آغازگر اختصاصی.

نگارنده مسئول: Habib_ghaz@yahoo.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۱۱۰۶

مقدمه

گنـــدم نـــان (*Triticum aestivum* L.) بـه عنـوان محصـول راهبـردی در بـین گیاهـان زراعی با سطح زیر کشت بیش از ۲۱۹ میلیـون هکتـار و تولیـد ۷۶۱ میلیـون تـن رتبـه دوم پـس از ذرت را بــه خــود اختصــاص داده اســت (FAO, 2020).

بر اساس جدیدترین آمار و اطلاعـات میـزان تولید گندم آبی و دیم ایران در سـال ۹۹-۱۳۹۸ بـه ترتیـب حـدود ۸/۳ و ۵/۲۳ میلیـون تـن بـوده است، که نسبت به سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ حدود ۰/۱ میلیون تن در گنـدم آبـی افـزایش و حـدود ۰/۲۷ میلیــون تــن در گنــدم دیــم کــاهش داشته است. سطح زیر کشت گندم آبـی در ایـن ســال ۴/۲۳ میلیــون هکتــار و ســطح کشــت گنــدم دیــم ۱/۳ میلیــون هکتــار بــوده اســت (Ahmadi *et al*., 2020; Ahmadi *et al*., 2021).

گندم نان از عـرض هـای جغرافیـایی ۶۰-۳۰ درجـه شـمالی تـا ۴۰-۲۷ درجـه جنـوبی کشـت مــی شــود. گنــدم بــا قابلیــت زراعــت در اقلیم‌هـای مختلـف سـرد و خشـک از بیشـترین سـطح زیـر کشـت در جهـان برخـوردار اسـت (Enghiad *et al*., 2017). این محصول براساس دمـا و زمـان گلـدهی دارای سـه عـادت رشـد زمسـتانه، بینـابین و بهـاره اسـت. گنـدم زمسـتانه نیاز به یـک دوره سـرما جهـت گلـدهی دارد و معمولا در پاییز کشت شده و در اواخـر بهـار تـا اواسط تابسـتان سـال زراعـی برداشـت می‌شـود. در حالی که گندم بهاره، بدون نیاز یا نیاز انـدک بـه گذرانـدن دوره سـرمایی جهـت گلـدهی، می‌توانـد در گسـترهای از فصـل کشـت پـاییز تـا بهـار، کاشـته و در اواسـط بهـار تـا اوایـل تابسـتان همـان سـال زراعـی برداشـت شـود (Sadeghian Motahar *et al*., 2007).

تنش سرما به عنوان یکی از تنش‌های محیطی مهم سبب کاهش عملکرد کمی و کیفیت دانه و حتـی مـرگ گیاهـان می‌شـود. در منـاطق سـرد، تنش یخبندان عامل محدود کننده افزایش تولید گنـدم و جـو می‌باشـد (Saibo *et al*., 2009). توانایی ژنوتیپ‌های گندم در تحمل تـنش سـرما از خصوصیاتی است که می‌تواند موفقیت کشت گندم را در این منـاطق تضـمین نمایـد. ایـران از جمله کشورهایی است که تنش سرما در مـزارع غلات آن همـواره مشـکل اساسـی در راه تولیـد محصول است.

مطابق آمار سامانه جامع بیمـه کشـاورزی در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ تنش سـرما و یخبنـدان در ردیف دوم پرداخت به عوامل خسـارت‌زا بـه محصولات زراعی تحت پوشش بیمه کشاورزی قرار گرفتند. از وقـوع سـرما و یخبنـدان در ایـن سال زراعی حـدود شـش هـزار میلیـارد ریـال و معادل ۲۲ ٪ از کل مبلغ غرامت قابل پرداخت بـه کشاورزان بود. بر مبنای همین آمار گندم دیـم و گنـدم آبـی بـا ۳۸۳۸ و ۲۶۷۴ میلیـارد ریـال بـه ترتیــب رتبــه‌های اول و ســوم غرامــت قابــل پرداخــت بــه کشــاورزان در بــین محصــولات خسارت دیده تحت پوشش بیمه کشاورزی را به خود اختصاص دادند (Anonymous, 2022).

بهبود عملکرد دانه هدف اصلی بسیاری از برنامه‌های به نژادی گندم است. با این وجود عملکرد دانه دارای سازکار ژنتیکی پیچیده‌ای است که محدودیت‌هایی را برای فرایند به نژادی و انتخاب ایجاد می‌کند. از جمله عوامل ژنتیکی اصلی مؤثر بر عملکرد دانه در گندم ژن‌های بزرگ اثرعادت رشد (Growth habit) و سازگاری هستند که شامل ژن‌های بهاره‌سازی، فتوپریود و کاهش ارتفاع گیاه می‌باشند (Lozada *et al*., 2021). شناسایی تنوع آللی ژن‌های کنترل کننده نیاز به بهاره‌سازی (Vernalization) در ژنوتیپ‌های مختلف گندم امکان تعیین عادت رشد، پیش‌بینی سطح تحمل سرما و سازگاری آنها را در اقلیم‌ها و مناطق هدف تاحدودی فراهم می‌سازد.

غلات از جمله گندم برای گلدهی و عبور از مرحله رویشی به زایشی باید در مراحل خاصی از چرخه زندگی دماهای پایین را تجربه کنند (Zaitseva *et al*., 2015). دمای لازم جهت بهاره‌سازی به همراه فتوپریود عوامل محیطی اصلی هستند که گیاهان را برای تعیین زمان مناسب برای گلدهی هدایت می‌کنند (Sung and Amasino, 2004; Dennis and Peacock, 2009). فرآیند بهاره‌سازی برای گندم زمستانه زمانی اتفاق می‌افتد که گیاه برای مدت شش تا هشت هفته در دمای بین ۴ تا ۶ درجه سانتی‌گراد قرار گیرد. بهاره‌سازی باعث جلوگیری از تسریع گلدهی در زمستان می‌شود و در بهار با مساعد شدن شرایط محیطی گلدهی را امکان پذیر می‌کند (Chen *et al*., 2013).

در سطح مولکولی طول دوره نیاز به بهاره‌سازی در گندم نان توسط مکان ژنی VRN کنترل می‌شود و ژن‌های کنترل‌کننده بهاره‌سازی در غلات (VRN-1، VRN-2 و VRN-3) هستند (Trevaskis *et al*., 2007; Distelfeld *et al*., 2009). مکان ژنی VRN-1 در جوانه انتهایی و برگ‌ها کارکرد ویژه‌ای دارد. در جوانه انتهایی بیان مکان ژنی VRN-1 ورود به مرحله زایشی را بهبود می‌بخشد، بنابراین تولید برگ‌ها متوقف و نمو گل‌ها شروع می‌شود (Hemming *et al*., 2009).

در برگ‌ها بیان مکان ژنی VRN-1 باعث پاسخ گلدهی به طول روزهای بلند شده و با افزایش طول روز در بهار باعث افزایش گلدهی می‌شود (Trevaskis *et al*., 2007). مکان ژنی VRN-2 یک مانع برای گلدهی است که در روزهای بلند بیان می‌شود و مشابه ژن FLC (Flowering Locus C) در آرابیدوپسیس است (Yan *et al*., 2004a) و به نظر می‌رسد که ژن VRN-2 با توقف در القا ژن VRN-3 در روزهای بلند گلدهی را به تاخیر می‌اندازد. در غلات مکان ژنی VRN-2 در زمستان به طور مستقیم و غیرمستقیم مکان ژنی VRN-3 را کنترل می‌کند (Hemming *et al*., 2009).

مکان ژنی VRN-3 پروتئین FT (Flowering Locus T) را در برگ‌ها تولید و سپس به جوانه انتهایی منتقل کرده و در آنجا

نمو گل را تحریک می‌کند. پاسخ گلدهی به روزهای بلند توسط ژن FT انجام می‌شود (Trevaskis, 2010). در غلاتی مانند گندم و جو، مشابه ژن FT1 (Flowering Locus T1) در آرابیدوپسیس تالیانا، ژنی به نام VRN-3 وجود دارد که با طول روز بلند القا می‌شود و گلدهی را تسریع می‌کند. در فرآیند گلدهی غلات، این ژن تنها در گیاهانی که بهاره‌سازی شده‌اند بیان می‌شود (Yan *et al*., 2006).

یکی از سازکارهای تنظیم کننده مهم برای بهاره‌سازی مبتنی بر اثر اپیستازی بین مکان‌های ژنی VRN-1 و VRN-2 است. ژن‌های VRN-2 و VRN-1 تاثیرات متفاوتی بر رفتار گلدهی دارند. در ارقام زمستانه، ژن VRN-1 در ابتدا به مقدار کم بیان می‌شود و با بهاره‌سازی افزایش می‌یابد. احتمالا مکان ژنی VRN-1 با کنشی که با مکان ژنی VRN-2 دارد بیان ژن VRN-3 را کنترل می‌کند (Trevaskis *et al*., 2007).

گندم‌های معمولی (هگزاپلوئید 2n = 42 با ژنوم AABBDD) دارای سه نسخه هومیولوگ (Homeologous) از ژن VRN-1 می‌باشند که روی بازوی بلند کروموزوم‌های (5A، 5B و 5D) قرار گرفته‌اند (Yan *et al*., 2004b). در مجموع این سه ژن به عنوان جایگاه VRN-1 شناخته شده‌اند. حضور آلل مغلوب در تمام این مکان‌ها باعث عادت رشد زمستانه می‌شود. در حالی که حضور یک آلل غالب در این جایگاه‌ها باعث عادت رشد بهاره می‌گردد (Stelmakh, 1993). تفاوت‌های آللی در جایگاه VRN-1 اغلب منشا اصلی تنوع عادت رشد در ارقام گندم در میان ژن‌های بهاره سازی است. بیان ژن VRN-1 به عنوان یک عامل رونویسی برای گلدهی غلات زمستانه ضروری است (Danyluk *et al*., 2003; Yan *et al*., 2003).

در ارقام با عادت رشد زمستانه ژن VRN-1 در اثر قرار گرفتن در معرض سرما بیان می‌شود اما در ارقام با عادت رشد بهاره بیان ژن VRN-1 نیازی به بهاره‌سازی و قرار گرفتن در معرض سرما ندارند. ژنوتیپ‌های گندم با عادت رشد زمستانه و بهاره این آلل‌ها را به ترتیب به صورت مغلوب و غالب دارند. آلل‌های غالب جایگاه VRN-1 تحت عنوان Vrn-A1، Vrn-B1 و Vrn-D1 و آلل‌های مغلوب هم تحت عنوان vrn-A1، vrn-B1 و vrn-D1 مشخص شده‌اند (Zaitseva and Lemesh, 2015). سه آلل غالب Vrn-A1a، Vrn-A1b و Vrn-A1c برای جایگاه ژنی Vrn-A1 شناسایی شده‌اند (Yan *et al*., 2003; Yan *et al*., 2004b). در مکان‌های ژنی VRN-B1 و VRN-D1 حذف بزرگی در اینترون اول موجب پیدایش آلل‌های غالب شده است (Fu *et al*., 2005; McIntosh *et al*., 2020).

برای ارزیابی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده بهاره سازی در گندم نان از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction = PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر دو ناحیه خاص در ژن‌های VRN استفاده می‌شود.

تفکیک اولیه واریانت‌های ژن Vrn-A1 براساس تفاوت در ناحیه راه‌اندازهای ژن Vrn-A1 می‌باشد که باعث شناسایی آلل‌های Vrn-A1a، Vrn-A1b و vrn-A1 می‌شود. در مرحله بعد براساس حضور یا حذف یک قطعه DNA در اولین اینترون مکان ژنی VRN-1 شناسایی و تفکیک ژن‌های Vrn-A1c، Vrn-B1 و Vrn-D1 انجام می‌شود (Nowak *et al*., 2010). فو و همکاران (Fu *et al*., 2005) و یان و همکاران (Yan *et al*., 2004; Yan *et al*., 2006) از طریق آزمایش و بررسی حذف شدگی‌ها و چند شکلی‌ها از نوع (Single Nucleotide Polymorphism = SNP) در اینترون اول مکان ژنی VRN-1 نه جفت آغازگر برای تکثیر آلل‌های مذکور طراحی نمودند.

با توجه به اهمیت و نقش بهاره‌سازی در سازگاری گندم، بررسی و درک توزیع آللی ژن‌های کنترل‌کننده آن و کاربرد اطلاعات بدست آمده از طریق گزینش به کمک نشانگر در برنامه‌های به نژادی از اهمیت و الویت ویژه‌ای برخوردار است. چندین روش فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در دسترس برای تشخیص ژن‌های بهاره‌سازی در گندم و سایر غلات و حبوبات وجود دارد. با این حال، برخی از آنها وقت‌گیر و نیاز به کار فشرده دارد و تحت تأثیر شرایط محیطی نیز می‌باشد بنابراین برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی کاربردی گندم مناسب نیستند.

هدف از این پژوهش بررسی تنوع آللی ژن‌های موثر در بهاره‌سازی تعدادی از لاین‌های امیدبخش گندم نان اقلیم‌های سرد و معتدل کشور با استفاده از نشانگرهای مولکولی و ارتباط آن با عادت رشد این ژنوتیپ‌ها در مزرعه بود. آگاهی از ترکیب آللی این ژن‌ها می‌تواند نقش مهمی در بهبود سازگاری ژنوتیپ‌های گندم و پتانسیل عملکرد دانه داشته باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این بررسی تنوع آللی مکان‌های ژنی مربوط به بهاره‌سازی ۴۰ ژنوتیپ گندم نان شامل ۳۳ لاین امیدبخش و چهار رقم تجاری اقلیم سرد و سه رقم اقلیم معتدل کشور به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ‌های شماره ۲۰-۱ شامل ارقام شاهد و لاین‌های امیدبخش اقلیم سرد کشور و ژنوتیپ‌های شماره ۴۰-۲۱ شامل ارقام شاهد و لاین‌های امیدبخش اقلیم معتدل کشور می‌باشند (جدول ۱).

ارزیابی عادت رشد فصلی

به منظور تعیین عادت رشد در مزرعه، بذر ژنوتیپ‌های گندم نان مورد بررسی به مدت دو سال (۱۳۹۹و ۱۴۰۰) در اواخر اردیبهشت در مزرعه تحقیقاتی غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در کرج بر روی پشته‌های یک متری و در یک خط روی هر پشته کشت شد و در اوایل تیر

جدول ۱- نام، شجره، منشاء و تاریخچه انتخاب ژنوتیپ‌های گندم نان
Table 1. Name, pedigree, origin and selection history of bread wheat genotypes

شماره ژنوتیپ Genotype No.	نام/ شجره Name/ pedigree	منشاء Origin	تاریخچه انتخاب Selection history
G1	Mihan (Check#1 for Cold zone)	SPII	–
G2	Heidari (Check#2 for Cold zone)	SPII	–
G3	Zarineh (Check#3 for Cold zone)	SPII	–
G4	Zareh (Check#4 for Cold zone)	IWWIP	–
G5	Alvd/4/Ghk"s"/Bow"s"//90Zhong87/3/Shiroodi	SPII	1-C-19324-1
G6	Alvd/4/Ghk"s"/Bow"s"//90Zhong87/3/Shiroodi	SPII	1-C-19324-2
G7	Charger//CMH80A.768/3*Cno79/3/Zrn	SPII	1-C-19467-1
G8	Charger//CMH80A.768/3*Cno79/3/Zrn	SPII	1-C-19467-2
G9	Spb"s"//K1349/Go/3/Vee"s"/4/Bkt/90-Zhong 87	SPII	1-C-19369-1
G10	Shahpasand/Norman	SPII	1-C-19521
G11	Alvd/4/Ghk"s"/Bow"s"//90Zhong87/3/Shiroodi	SPII	1-C-19324-1
G12	Alvd/4/Ghk"s"/Bow"s"//90Zhong87/3/Shiroodi	SPII	1-C-19324-2
G13	Alvd/4/Ghk"s"/Bow"s"//90Zhong87/3/Shiroodi	SPII	1-C-19324-3
G14	Spb"s"//K1349/Go/3/Vee"s"/4/Bkt/90-Zhong 87	SPII	1-C-19369-2
G15	AU/3/MINN//HK/38MA/4/YMH/ERA/5/PMF// CNO/GLL/6/KAUZ//ALTAR 84/AOS/7/TAM 105/ 3/NE70654/BBY//BOW"S"/4/Century*3/TA2450	IWWIP	0AP-DH61
G16	GRK79/TUKURU	IWWIP	CGWS05B00072S-099MI-099MI-099MI-32WM-0WM
G17	MV NEMERE (DI-9812/AMANDA)	Hungry	161230
G18	ARS97135-9/O3A-B4//KS06O3A~49	IWWIP	KS061470K-2
G19	Eryt1554.90/MV17	IWWIP	-
G20	Gul96/Shark-1	IWWIP	-
G21	Rakhshan (Check#1 for Temperate zone)	CIMMYT	–
G22	Torabi (Check#2 for Temperate zone)	CIMMYT	–
G23	WBLL4/KUKUNA//WBLL1/3/WBLL1*2/BRAMBLING	CIMMYT	CMSS07Y00348S-0B-099Y-099M-099Y-19M-0WGY
G24	TUKURU//BAV92/RAYON*2/3/KIRITATI	CIMMYT	CMSS07B00636T-099TOPY-099M-099NJ-099NJ-10WGY-0B
G25	Parsi//Attila*2/PBW65	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4007
G26	Sivand/B k t /90-Zhong87	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4010
G27	HAAMA-11/Niknejad	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4012
G28	Amin (Check#3 Temperate zone)	SPII	Iran
G29	Mv22-77//Stephon/3/Mon"s"/Lmu"s"//Falke/4/Zarin/ 5/Parsi/6/ B k t /90-Zhong87	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4065
G30	PBW343*2/KUKUN(50Y)//Yaco/2*Parus/3/PRL/ 2*PASTOR	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4090
G31	PBW343*2/KUKUN(50Y)//Parsi/3/PRL/ 2*PASTOR	SPII	PWSN-Karaj-2017- 4096
G32	Seri 82//Shuha"S"/4/Rbs/Anza/3/Kvz/Hys//Ymg/ Tob/5/Yaco/2*Parus/6/Parsi	SPII	PWSN-Kermanshah-2017
G33	TUI//CMH76-252/PVNS/3/Ghods	SPII	PWSN-Zarghan-2017
G34	KATILA-8/4/SKAUZ/BAV92/3/CROC-1/AE.SQUARROSA (224)// OPATA/5/MUNIA/ALTAR 84//MILAN	CIMMYT	ICW06-50319-2AP-0AP-0AP -02 5D
G35	SERI.1B*2/3/KAUZ*2/BOW//KAUZ/4/KAUZ/FLORKWA-1	CIMMYT	AISBW05-0086-4AP·0AP-0AP-1AP-0AP
G36	CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//BORL95/3/PRL/SARA//T SI/VEE#5/4/FRET2/6/MTRWA92.161/PRINIA/5/SERI*3//RL 6010/4*YR/3/PASTOR/4/BAV92	CIMMYT	CMSA10M00468S-099ZTM-099NJ-099NJ-3WGY-0B
G37	ROLF07/SAUAL/3/TRCH/SRTU//KACHU/4/ROLF07/SAU AL	CIMMYT	CMSS10B01019T-099TOPY-099M-099NJ-099NJ-26WGY-0B
G38	CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//BORL95/3/PRL/SARA//T SI/VEE#5/4/FRET2/5/2*BAVIS #1	CIMMYT	CMSA10M00201T-050Y-099ZTM-099NJ-099NJ-7WGY-0B
G39	SAUAL/YANAC//SAUAL*2/3/TACUPETO F2001/ BRAMBLING*2//KACHU	CIMMYT	CMSS11Y01150T-099TOPM-099Y-099M-0SY-11M-0WGY
G40	CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//BORL95/3/PRL/SARA//T SI/VEE#5/4/FRET2/6/MTRWA92.161/PRINIA/5/SERI*3//RL 6010/4*YR/3/PASTOR/4/BAV92	CIMMYT	CMSA10M00468S-099ZTM-099NJ-099NJ-5WGY-0B

CIMMYT: International Maize and Wheat Improvement Center.
IWWIP: International Winter Wheat Improvement Program.
SPII: Seed and Plant Improvement Institute, Iran.

یادداشت برداری انجام گرفت. در این بررسی امتیازدهی برمبنای سه عادت رشد بهاره (Spring = S)، بینابین (Facultative = F) و زمستانه (Winter = W) انجام شد. برای عادت رشد بینابین طیفی از عادت بینابین متمایل به بهاره (Fs) و بینابین متمایل به زمستانه (Fw) قابل مشاهده بود. که ارزیابی و ثبت شد همچنین برای تعیین عادت رشد ژنوتیپ‌ها در گلخانه، بذر ژنوتیپ های گندم نان مورد مطالعه فوق در تیر سال دوم آزمایش در گلخانه بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در داخل گلدان‌های پلاستیکی کشت شد و در اواخر مهر عادت رشد آنها تعیین گردید (Sadeghian Motahar *et al.*, 2007).

استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و بررسی تنوع آللی

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB انجام شد (Saghai-Maroof *et al.*, 1984). ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Wi53711, Thermo Electron Corporation, USA) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام و سپس توسط آغازگرهای اختصاصی مبتنی بر واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (STS-PCR) تکثیر گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر برای هر واکنش با ترکیبات زیر انجام شد: PCR Buffer (1X)، آغازگر (۲۰۰ نانومول)، Taq DNA Polymerase (یک واحد)، dNTPs (۰/۲ میلی مولار)، $MgCl_2$ (۱/۵ میلی مولار) و DNA ژنومی (۵۰ نانو گرم). چرخه‌های حرارتی به صورت یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه به مدت سه دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۸ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، سپس ۳۰ ثانیه (براساس دمای اتصال تخصصی هر آغازگر ارائه شده در جدول ۳)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و در نهایت مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه صورت گرفت (جدول ۲).

جدول ۲- چرخه دمایی نشانگرهای اختصاصی

Table 2. Temperature cycles of specific markers

Cycle	چرخه	تعداد چرخه Cycle no.	دما (درجه سانتی‌گراد) Temperatur (°C)	Time	زمان
Primary denaturation	واسرشت سازی اولیه	1	94	3.0 minutes	سه دقیقه
Denaturation	واسرشت سازی	38	94	30 Seconds	سی ثانیه
Primer annealing	اتصال آغازگر	38	مطابق جدول ۳ برای هر آغازگر (According to the table 3 for each primer)	30 Seconds	سی ثانیه
Extension	تکثیر	38	72	1.0 minute	یک دقیقه
Final extension	تکثیرنهایی	1	72	7.0 minutes	هفت دقیقه

جدول ۳- خصوصیات توالی آغازگرهای مورد استفاده برای شناسائی تنوع آللی در مکان‌های ژنیVRN

Table 3. Sequence characteristics of primers used to identify allelic diversity in VRN loci

مکان ژنی بهاره سازی Vernaization locus	آلل Allele	آغازگرها Primers	توالی آغازگر Primer sequence	دمای اتصال Attachment temperature (°C)	اندازه مورد انتظار Expected size	منبع Reference
Vrn-A1	VrnA1a & Vrn A1b	Vrn1AF Vrn1R	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG TGCACCTTCCCCCGCCCCAT	55.0	650-750 bp (VrnA1a) & 480 bp (Vrn A1b)	Yan *et al*., 2004
	VrnA1a & Vrn A1b	Vrn1AF VRN1-INT1R	GAAAGGAAAAATTCTGCTCG GCAGGAAATCGAAATCGAAG	50.0	876-965bp (VrnA1a) & 714bp (Vrn A1b)	Yan *et al*., 2004
	vrn-A1	Intr1/C/F Intr1/AB/R	GCACTCCTAACCCACTAACC TCATCCATCATCAAGGCAAA	56.4	1068bp	Fu *et al*., 2005
Vrn-B1	Vrn-B1	Intr1/B/F Intr1/B/R3	CAAGTGGAACGGTTAGGACA CTCATGCCAAAAATTGAAGATGA	58.0	709bp	Fu *et al*., 2005
	vrn-B1	Intr1/B/F Intr1/B/R4	CAAGTGGAACGGTTAGGACA CAAATGAAAAGGAATGAGAGCA	56.4	1149bp	Fu *et al*., 2005
Vrn-D1	Vrn-D1	Intr1/D/F Intr1/D/R3	GTTGTCTGCCTCATCAATCC GGTCACTGGTGGTCTGTGC	61.0	1671bp	Fu *et al*., 2005
	vrn-D1	Intr1/D/F Intr1/D/R4	GTTGTCTGCCTCATCAATCC AAATGAAAAGGAACGGAGCG	61.0	997bp	Fu *et al*., 2005
Vrn-B3	Vrn-B3	Vrn4-B-Ins-F Vrn4-B-Ins-R	CATAATGCCAAGCCGGTGAGTAC ATGTCTGCCAATTAGCTAGC	63.0	1200bp	Yan *et al*., 2006
	vrn-B3	Vrn4-B-Noins-F Vrn4-B-Noins-R	ATGCCTTTCGCTTGCCATCC CTATCCCTACCGGCCATTAG	56.0	1140bp	Yan *et al*., 2006

الکتروفورز محصول PCR از طریق ژل آگارز ۱/۵ و سه درصد انجام و باندهای مربوطه توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و سپس تحت اشعه ماورابنفش در دستگاه ژل داکیومنت (UVitech) ظاهرسازی و سپس امتیازدهی شدند. در مرحله اول براساس تفاوت آللی نشانگرهای ناحیه راه‌انداز ژن Vrn-A1، آلل‌های Vrn-A1a، Vrn-A1b و vrn-A1 شناسایی شدند (Yan *et al.*, 2004b). در مرحله بعد براساس وجود نقص در اولین اینترون ژن VRN-1، آلل‌های Vrn-A1c، Vrn-B1 و Vrn-D1 تعیین شدند (Fu *et al.*, 2005). توالی الیگونوکلئوتیدی آغازگرهای مورد استفاده (Yan *et al*., 2004; Fu *et al*., 2005; Yan *et al*., 2006) در جدول ۳ نشان داده شده‌اند. امتیازدهی الگوهای نواری به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) برای کلیه باندهای مربوطه انجام شد.

برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، ابتدا ماتریس تشابه با روش جاکارد تشکیل و سپس با استفاده از الگوریتم UPGMA دندروگرام فواصل ژنتیکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 رسم گردید. برای محاسبه همبستگی بین ماتریس تشابه و دندروگرام حاصل (ضریب کوفنتیک) از گزینه Coph در نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزیابی عادت رشد فصلی

براساس مشاهدات مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در کرج از میان ۲۰ ژنوتیپ اقلیم سرد ۱۱ ژنوتیپ دارای عادت رشد زمستانه (W)، هشت ژنوتیپ عادت رشد بینابین (F) و یک ژنوتیپ دارای عادت رشد بهاره (S) بودند. از میان هشت ژنوتیپ با عادت رشد بینابین، پنج ژنوتیپ دارای عادت رشد بینابین متمایل به زمستانه (Fw) شناسایی شدند (جدول ۴). یادداشت برداری مزرعه‌ای ژنوتیپ‌های اقلیم معتدل نشان داد که ۱۵ ژنوتیپ دارای عادت رشد بهاره و پنج ژنوتیپ دارای عادت رشد بینابین بودند. در ارزیابی عادت رشد ژنوتیپ‌ها در گلخانه ۱۲ ژنوتیپ دارای عادت رشد بهاره و هشت ژنوتیپ دارای عادت رشد بینابین بودند. از بین این هشت ژنوتیپ، دو ژنوتیپ دارای عادت رشد بینابین متمایل به زمستانه (Fw) و یک ژنوتیپ دارای عادت رشد بینابین متمایل به بهاره (Fs) شناسایی شدند (جدول ۴).

تنوع آللی در ناحیه راه‌انداز ژن VRN-A1

در ابتدا برای تعیین تنوع آللی در مکان ژنی VRN-A1 از آغازگرهای Vrn1AF و Vrn1R استفاده شد (جدول ۳). این آغازگرها در بررسی‌های انجام شده توسط محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2012) و اقبال و همکاران(Iqbal *et al*., 2011) برای تفکیک آلل‌های مکان ژنی VRN-A1 استفاده شده بود،

جدول ۴- ترکیب آللی و عادت رشد ژنوتیپ‌های گندم نان

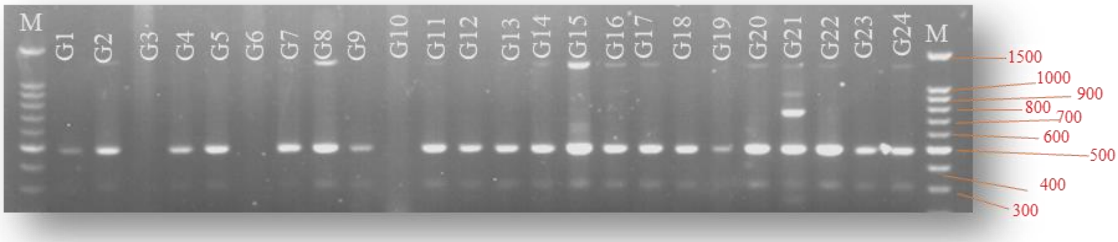
Table 4. Allelic composition and growth habit of bread wheat genotypes

شماره ژنوتیپ Genotype no.	ترکیب آللی ژن‌های مختلف کنترل کننده بهاره‌سازی Allelic composition of different genes controlling vernalization				عادت رشد در مزرعه Field-based growth habit	عادت رشد در گلخانه Green house-based growth habit
	VRN-A1	VRN-B1	VRN-D1	VRN-B3		
G1	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	W	W
G2	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F_W
G3	Vrn-A1n	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	F_W	F_W
G4	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G5	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F
G6	Vrn-A1c	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F
G7	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G8	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G9	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	W	W
G10	Vrn-A1n	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G11	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	F_W	F_W
G12	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	F_W	F_W
G13	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	F_W	F_W
G14	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G15	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G16	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F_W	F
G17	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G18	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G19	Vrn-A1c	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G20	vrn-A1	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	W	W
G21	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G22	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	0	S	F
G23	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	F
G24	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F_W
G25	Vrn-A1n	vrn- B1	vrn- D1	vrn- B3	S	F
G26	vrn-A1	vrn- B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F_W
G27	Vrn-A1a	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G28	Vrn-A1a	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G29	Vrn-A1a	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G30	Vrn-A1c	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F
G31	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	F	F
G32	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G33	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	F	S
G34	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	F_S
G35	vrn-A1	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G36	Vrn-A1c	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G37	vrn-A1	Vrn -B1	vrn- D1	vrn- B3	S	S
G38	Vrn-A1b	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G39	Vrn-A1b	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S
G40	Vrn-A1b	Vrn -B1	Vrn- D1	vrn- B3	S	S

W: Winter زمستانه S: Spring بهاره

F_W: Facultaive with tendency to winter بینابین متمایل به زمستانه F_S: Facultaive with tendency to spring بینابین متمایل به بهاره

ولی در این پژوهش علی‌رغم چند بار تکرار PCR، باندهای حاصل قابل تفکیک به آلل‌های موردنظر در مکان ژنی مزبور نبودند (شکل ۱). با توجه به این موضوع از آغازگرهای VRN1-INT1R و VRN1AF که توسط یان و همکاران (Yan *et al*., 2004) و فو و همکاران (Fu *et al*. 2005) برای تمایز آلل‌های مکان ژنی VRN-A1 معرفی شده بود، استفاده شد (جدول ۳). این آغازگرها قطعات مورد نظر در ناحیه راه‌انداز ژن Vrn-A1 را تکثیر و آلل‌های vrn-A1 و Vrn-A1c را از آلل‌های Vrn-A1a و Vrn-A1b تشخیص دادند، اما نتوانستند آلل مغلوب vrn-A1 را از آلل غالب Vrn-A1c متمایز کنند (Yan *et al*., 2004b).



شکل ۱- الگوی نواری ژن VRN-A1 براساس آغازگرهای Vrn1AF و Vrn1R در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزن مولکولی 100 bp

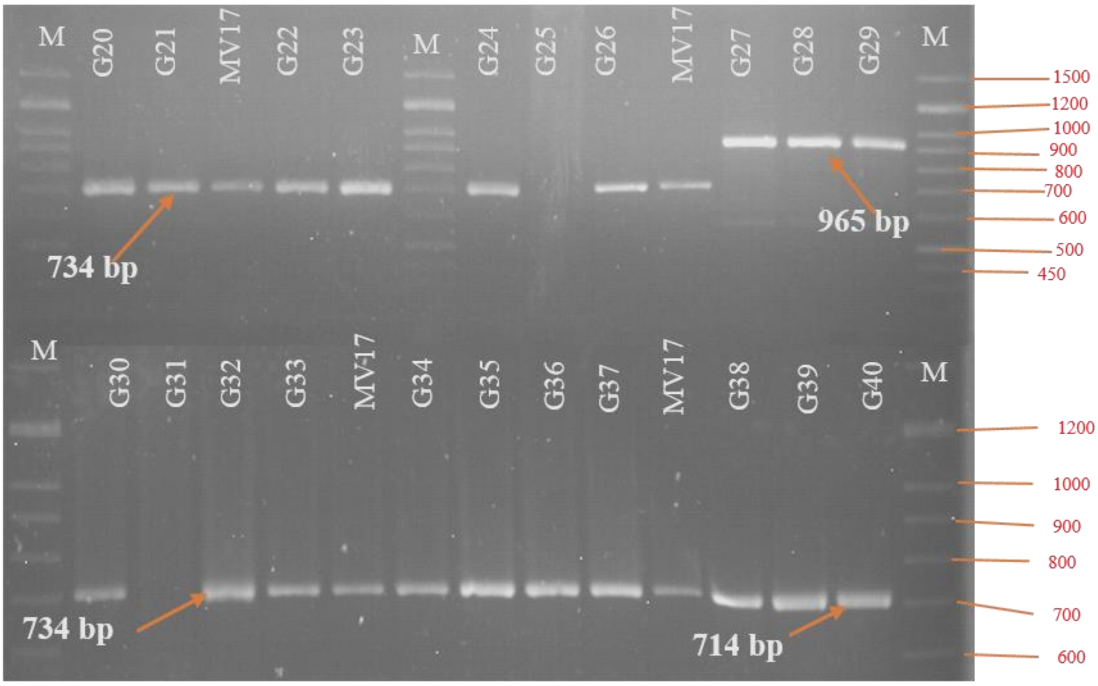
Fig. 1. Electrophoresis of VRN-A1 gene for Vrn1R and Vrn1AF primers in bread wheat genotypes. M: 100 bp molecular-weight marker

تولید دو باند به اندازه‌های ۹۶۵ و ۸۷۶ جفت بازی بیانگر حضور آلل Vrn-A1a، تکثیر یک باند ۷۱۴ جفت بازی نشانه حضور آلل Vrn-A1b و ایجاد باند ۷۳۴ جفت بازی نشانه وجود یکی از آلل‌های vrn-A1 یا Vrn-A1c در ژنوتیپ‌های گندم نان مورد بررسی بود. نکته مهم در این مرحله تفکیک باندهای ۷۳۴ و ۷۱۴ جفت بازی بود که به علت اختلاف ۲۰ جفت بازی این باندها، تفکیک آنها در ژل آگاروز ۱/۵ درصد به سختی انجام می‌پذیرد. تفکیک این باندها با تغییر شرایط آزمایش و با استفاده از ژل آگارز سه درصد و الکتروفورز محصولات PCR به مدت طولانی (۴/۵ ساعت) در ولتاژ ۹۰ ولت انجام شد. برای اطمینان از وجود باند ۷۳۴ جفت بازی و تمایز این باند از باند ۷۱۴ بازی محصول PCR، گندم رقم زمستانه MV17 به عنوان شاهد در بین چاهک‌ها تکرار شد (شکل ۲).

در مجموع از ۴۰ ژنوتیپ مورد مطالعه ۳۱ ژنوتیپ (۷۷/۵ درصد) دارای باند ۷۳۴ جفت بازی، سه ژنوتیپ دارای آلل Vrn-A1a (باند ۹۶۵ جفت بازی)، سه ژنوتیپ دیگر دارای آلل Vrn-A1b (باند ۷۱۴ جفت بازی) و سه ژنوتیپ

(a)

(b)



شکل ۲- الگوی نواری ژن VRN-A1 براساس آغازگرهای VRN1-INT1R و VRN1AF در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزنی 50 bp (a): تفکیک Vrn-A1a از Vrn-A1(b): تفکیک Vrn-A1b از Vrn-A1

Fig. 2. Electrophoresis of VRN-A1 gene for VRN1-INT1R and VRN1AF primers in bread wheat genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker (a): Differentiation of Vrn-A1a from Vrn-A1 (b): Differentiation of Vrn-A1b from Vrn-A1

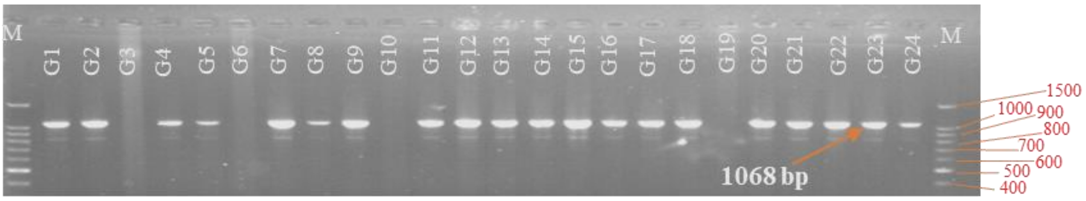
باقیمانده فاقد باند در مکان ژنی VRN-A1 بودند (شکل ۲ و جدول ۴). در این بررسی سه ژنوتیپ با آلل نول در مکان ژنی VRN-A1 با کد Vrn-A1n مشخص و نامگذاری شدند. عدم تولید باند در این سه ژنوتیپ به احتمال زیاد می‌تواند به علت جهش تک نوکلئوتیدی یا چند نوکلئوتیدی در محل اتصال آغازگر پیش رونده (Vrn1AF) باشد که در نتیجه پرایمر مورد استفاده در این پژوهش قادر به تکثیر آن مکان ژنی نبود. نتایج این پژوهش با مطالعه نظری و همکاران (Nazari *et al*., 2018) بر روی ۳۴ ژنوتیپ گندم نان خاورمیانه به همراه رقم بهاره چینی به عنوان شاهد، که در یکی از ژنوتیپ‌ها در این مکان ژنی هیچ باندی دیده نشد، مطابقت دارد. انتظار می‌رود که علی‌رغم این جهش تاثیر ژن مزبور در بهاره‌سازی در این مکان ژنی همچنان به قوت خود باقی باشد.

توضیح: به علت محدود بودن تعداد صفحات مقاله در شکل‌ها، ۲۴ ژنوتیپ اول ارائه

شده است ولی تنوع آللی همه ژنوتیپ‌های گندم نان در متن بحث شده است.

نشانگر غیر حذفی ناحیه راه‌انداز VRN-A1

آغازگرهای Intr1/C/F و Intr1/AB/R برای شناسایی و تکثیر نواحی از DNA که هیچ گونه حذفی در ناحیه راه‌انداز و اینترون نداشته باشد استفاده می‌شود. وجود یک باند ۱۰۶۸ جفت بازی نشان دهنده امکان وجود تمام آلل‌ها به غیر از Vrn-A1c است. از ۴۰ ژنوتیپ مورد بررسی در این آزمایش ۳۳ ژنوتیپ دارای باند ۱۰۶۸ می‌باشد که نشان می‌دهد که این ۳۳ ژنوتیپ فاقد آلل Vrn-A1c هستند (شکل ۳). این ترکیب آللی شامل vrn-A1 (۲۷ ژنوتیپ)، Vrn-A1a (سه ژنوتیپ) و Vrn-A1b (سه ژنوتیپ) بود. چهار ژنوتیپ باقیمانده دیگر دارای باند ۱۱۷۰ جفت بازی (Vrn-A1c) بودند (جدول ۴).



شکل ۳- الگوی نواری ژن VRN-A1 براساس آغازگرهای Intr1/C/F و Intr1/AB/R و تفکیک vrn-A1 در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزنی 100 bp

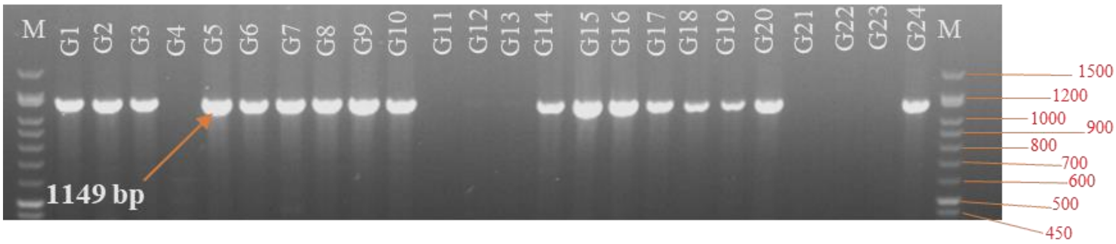
Fig. 3. Electrophoresis of VRN-A1 gene for Intr1/C/F and Intr1/AB/R primers and differentiation of vrn-A1 in bread wheat genotypes. M: 100 bp molecular-weight marker

براساس این نتایج می‌توان استنباط نمود که نشانگر ناحیه غیر حذفی ناحیه راه‌انداز VRN-A1 می‌تواند به عنوان مکمل خوبی برای ناحیه راه‌انداز این مکان ژنی بوده و نتایج حاصل از این دو نشانگر با هم می‌توانند تفکیک خوبی از آلل‌های مکان ژنی VRN-A1 ارائه دهند. با توجه به اینکه از مجموع ۴۰ ژنوتیپ اقلیم سرد و معتدل به ترتیب ۱۶ و ۱۱ ژنوتیپ دارای آلل مغلوب vrn-A1 بودند، می‌توان نتیجه گرفت که این مکان ژنی در بهاره بودن ژنوتیپ‌های معتدل از سهم کمتری برخوردار است. در مطالعات انجام شده توسط ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2008) بر روی ۳۰ رقم گندم زمستانه کلیه ژنوتیپ ها حامل آلل مغلوب vrn-A1 بودند و همچنین در پژوهش نواک و کوالس زیک (Nowak and Kowalczyk, 2010) روی ۱۳ رقم بهاره همه ارقام دارای آلل غالب Vrn-A1a بودند.

نشانگر ناحیه راه‌انداز VRN-B1

تنوع آللی موجود در ناحیه راه‌انداز ژن VRN-B1 با استفاده از آغازگرهای

Intr1/B/F و Intr1/B/R4 مورد بررسی قرار گرفت. تکثیر آلل مغلوب vrn-B1 توسط این آغازگرها نشان دهنده عدم حذف شدگی در منطقه اینترون بود. در صورت تکثیر باند ۱۱۴۹ جفت باز ژنوتیپ مورد نظر دارای آلل مغلوب vrn-B1 و عدم تکثیر باند نشان‌دهنده آلل غالب Vrn-B1 است (Mohammadi *et al.*, 2012). نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های ۳-۱، ۱۰-۵، ۲۰-۱۴ و ۲۶-۲۴ دارای باند ۱۱۴۹ جفت بازی بودند که نشان دهنده وجود آلل مغلوب vrn-B1 است (شکل ۴).



شکل ۴- الگوی نواری ژن VRN-B1 براساس آغازگرهای Intr1/B/F و Intr1/B/R4 و تفکیک vrn-B1 در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزنی 50 bp

Fig. 4. Electrophoresis of VRN-B1 gene for Intr1/B/F and Intr1/B/R4 primers and differentiation of vrn-B1 in bread wheat genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker

نشانگر حذفی ناحیه راه‌انداز VRN-B1

آغازگرهای اختصاصی Intr1/B/F و Intr1/B/R3 برای شناسایی حذف بزرگ در ناحیه اینترون آلل غالب Vrn-B1 استفاده می‌شود. وجود یک باند ۷۰۹ جفت بازی نشان دهنده حضور آلل غالب Vrn-B1 و عدم تکثیر آن نشان دهنده آلل مغلوب vrn-B1 بود (Nazari *et al.*, 2018). نتایج حاصل از این نشانگر داده‌های نشانگر پروموتر ناحیه VRN-B1 را تائید کرد به طوری که با استفاده از این نشانگر در ژنوتیپ‌های ۳-۱، ۱۰-۵، ۲۰-۱۴ و ۲۶-۲۴ و جمعا در ۴۷/۵ درصد باند مورد نظر مشاهده نشد که مجدداً تاکید بر مغلوب بودن آلل vrn-B1 می‌باشد. در سایر ژنوتیپ‌ها وجود باند ۷۰۹ جفت بازی مبین حضور آلل غالب Vrn-B1 بود (جدول ۴).

همانطور که انتظار می‌رفت الگوی باندی دو جفت آغازگر فوق یکدیگر را تکمیل کردند، یعنی اگر یک ژنوتیپ برای یکی از جفت آغازگرها باندی نشان داد برای آغازگر دیگر دارای باند نول بود. در مجموع، از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۱۹ ژنوتیپ دارای آلل مغلوب vrn-B1 و ۲۱ ژنوتیپ دارای آلل غالب Vrn-B1 بودند. از ۱۹ ژنوتیپ دارای آلل

مغلــوب vrn-B1، ۱۶ ژنوتیـــپ (۸۰ درصـــد) مربوط به اقلیم سرد و فقط سه ژنوتیپ مربوط به اقلــیم معتــدل بودنــد. درخشــان و همکــاران (Derakhshan *et al.*, 2013) بـا اسـتفاده از آغازگرهــای VRN1BR و VRN1BF تنــوع آللی موجود در منطقه راه‌انداز ژن VRN-B1 را در ۳۹۵ ژنوتیپ بومی گندم ایران مطالعه کردنـد و نتیجه گرفتند که ۸۰ ژنوتیپ دارای آلل غالب Vrn-B1 بودند. همچنین در تحقیـق انجـام شـده توسط تیبور و همکـاران (Tibor *et al.*, 2014) بـر روی ۶۸۳ ژنوتیـپ گنـدم جمـع آوری شـده از آسیا، آفریقـا، آمریکـا و اسـترالیا آلـل غالـب Vrn-B1 فقــط در ۸۳ ژنوتیــپ (۱۲/۱ درصــد) وجود داشت.

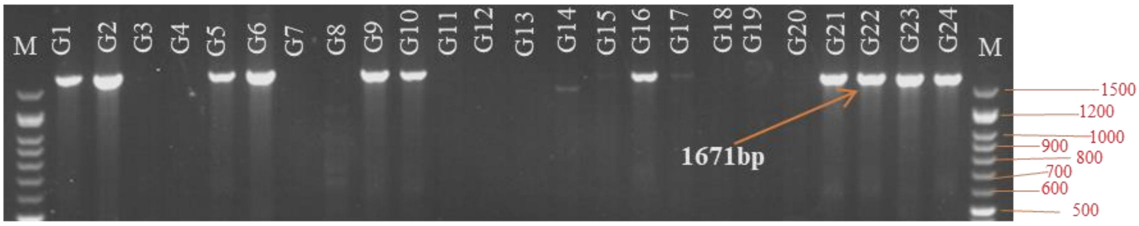
نشانگر ناحیه راه‌انداز VRN-D1

آغازگرهـــــای Intr1/D/F و Intr1/D/R4 توالی‌هـایی را تکثیـر می‌کننـد کـه هـیچ گونـه حـذفی در اولـین اینتـرون مربـوط بـه جایگـاه VRN-D1 در آن صـورت نگرفتـه اسـت. ایـن آغـازگر قطعـه‌ای بـه طـول ۹۹۷ جفـت بـاز در ژنوتیپ‌هـایی کـه دارای آلـل مغلـوب vrn-D1 هستند را تکثیر می‌کند (Fu *et al.*, 2005). عدم تکثیر این بانـد نشـان دهنـده وجـود آلـل غالـب Vrn-D1 می‌باشـد. در ژنوتیپ‌هـای ۳، ۴، ۷، ۸، ۱۱–۱۵، ۱۷–۲۰، ۲۵، ۳۳ و ۳۷ و جمعـــا در ۱۶ ژنوتیـپ قطعـه مـورد نظـر تکثیـر شـد کـه نشـان دهنـــده حضـــور آلـــل مغلـــوب vrn-D1 در ژنوتیپ‌هــای مــذکور بــود (جــدول ۴). از ۱۶ ژنوتیـــپ دارای آلـــل مغلـــوب، ۱۳ ژنوتیـــپ (۸۱ درصد) مربوط به اقلیم سرد و سـه ژنوتیـپ مربـوط بـه اقلـیم معتـدل بـود. بـه عبـارت دیگـر ایــن نتیجــه نشــان می‌دهــد کــه حضــور آلــل مغلوب باعث عادت رشـد زمسـتانه می‌شـود. در بقیه ژنوتیپ‌ها این باند وجود نداشت که حـاکی از وجود آلـل غالـب Vrn-D1 درآن ژنوتیپ‌هـا بــود. در مطالعــه محمـــد فـــام و همکـــاران (Mohammad Fam *et al.*, 2016) بر روی ۵۰ ژنوتیپ گندم نان، جمعا ۳۸ ژنوتیپ دارای آلـل مغلوب vrn-D1 بودند که با یافته‌های حاصـل از این پژوهش هم خوانی دارد.

نشانگر حذفی ناحیه راه‌انداز VRN-D1

آغازگرهای Intr1/D/F و Intr1/D/R3 آلل غالب که بیانگر نشانگر حذفی منطقه VRN-D1 می‌باشد را تکثیر می کنند و انتظـار مـی رود کـه کلیه ژنوتیپ‌هایی که بـا نشـانگر ناحیـه راه‌انـداز VRN-D1 تولید باند ۹۹۷ جفت بازی کنند فاقد هـر گونـه بانـدی بـا ایـن نشـانگر باشـند. تولیـد باند ۱۶۷۱ جفت بازی بیانگر وجود آلـل غالـب Vrn-D1 و عـدم تکثیـر بانـد نشـان دهنـده آلـل مغلـوب vrn-D1 می‌باشـد. وجـود قطعـه ۱۶۷۱ جفت بـازی در ژنوتیپ‌هـای ۱، ۲، ۵، ۶، ۹، ۱۰، ۱۶، ۲۴–۲۱، ۳۲–۲۶، ۳۶–۳۴، ۳۹ و ۴۰ و جمعـا ۲۴ ژنوتیپ مبین حضور آلل غالب Vrn-D1 در ژنوتیپ‌های گندم نان مورد نظر بود (شکل ۵).

از میان این ۲۴ ژنوتیپ ۱۷ ژنوتیپ مربوط به اقلیم معتدل و هفت ژنوتیپ مربوط به اقلیم سرد بودند. این قطعه در سایر ژنوتیپ‌ها تکثیـر نشـد، بنـــابراین بـــه نظـــر می‌رســـد کـــه آنهـــا دارای



شکل ۵- الگوی نواری ژن VRN-D1 براساس آغازگرهای Intr1/D/F و Intr1/D/R3 و تفکیک Vrn-D1 در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزنی 50 bp

Fig. 5. Electrophoresis of VRN-D1 gene for Intr1/D/F and Intr1/D/R3 primers and differentiation of Vrn-D1 in bread wheat genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker

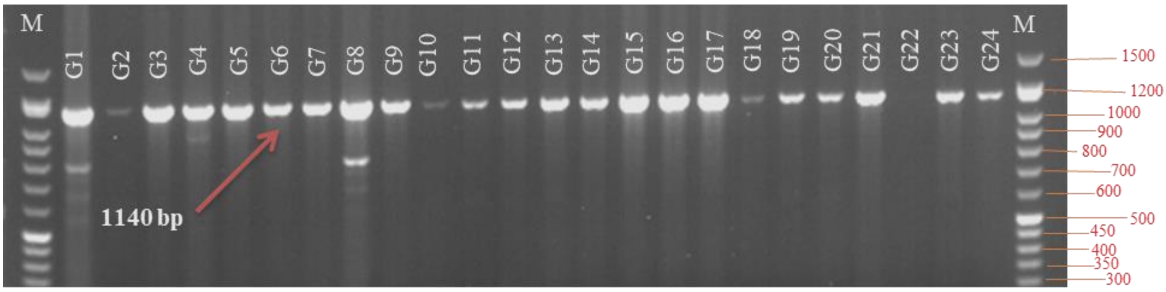
آلل مغلوب vrn-D1 بودند (جدول ۴). اقبال و همکاران (Iqbal *et al*., 2011) گزارش کردند که در مطالعه بر روی ۵۹ ژنوتیپ گندم بهاره پاکستان قطعات تکثیر شده با آغازگرهای Intr1/D/F و Intr1/D/R3 در ۳۵ رقم یا لاین باندهای ۱۶۷۱ جفت بازی تولید کردند که حضور آلل غالب در مکان ژنی Vrn-D1 را نشان می‌دهد. در مطالعه آنها در ۲۴ ژنوتیپ دیگر تکثیر این باند صورت نگرفت که نشان دهنده حضور آلل عادت رشد زمستانه (vrn-D1) در مکان ژنی VRN-D1 بود.

نشانگر ناحیه راه‌انداز VRN-B3

تکثیر یک باند ۱۱۴۰ جفت بازی بیانگر وجود آلل مغلوب vrn-B3 و عدم تکثیر باند نشان دهنده آلل غالب Vrn-B3 می‌باشد.آلل Vrn-B3یک آلل غالب برای ارقام با عادت رشد بهاره است و برای اولین بار در رقم Hope شناسایی شد (Yan *et al*., 2006). عدم حضور آلل غالب Vrn-B3 با جفت آغازگر Vrn4-B-Noins-F و Vrn4-B-Noins-R تائید می‌شود. کلیه ژنوتیپ‌های گندم نان مورد مطالعه بجز ژنوتیپ ۲۲ قطعه ۱۱۴۰ جفت بازی را تکثیر کردند که نشان دهنده حضور آلل مغلوب vrn-B3 در این ژنوتیپ‌ها بود (شکل ۶). ژانگ و همکاران (Zhang *et al*., 2008) با بررسی تنوع آللی ژن VRN-B3 در ۲۷۸ رقم گندم چینی گزارش کردند که ۲۷۶ رقم باند ۱۱۴۰ جفت باز را نشان دادند که بیانگر حضور آلل مغلوب vrn-B3 بود. همچنین در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2012) از بین ۶۰ لاین قدیم و جدید گندم نان ایرانی، ۲۳ لاین دارای آلل غالب Vrn-B3 و ۳۶ لاین دارای آلل مغلوب vrn-B3 بودند.

نشانگر حذفی ناحیه راه‌انداز VRN-B3

جفت آغازگر Vrn4-B-Ins-F و Vrn4-B-Ins-R در ژنوتیپ‌هایی که دارای آلل غالب Vrn-B3 هستند قطعاتی به طول ۱۲۰۰ جفت باز تکثیر



شکل ۶- الگـوی نواری ژن VRN-B3 براساس آغازگرهـای Vrn4-B-Noins-F و Vrn4-B-Noins-R و تفکیک vrn-B3 در ژنوتیپ‌های گندم نان. M: نشانگر وزنـی 50 bp

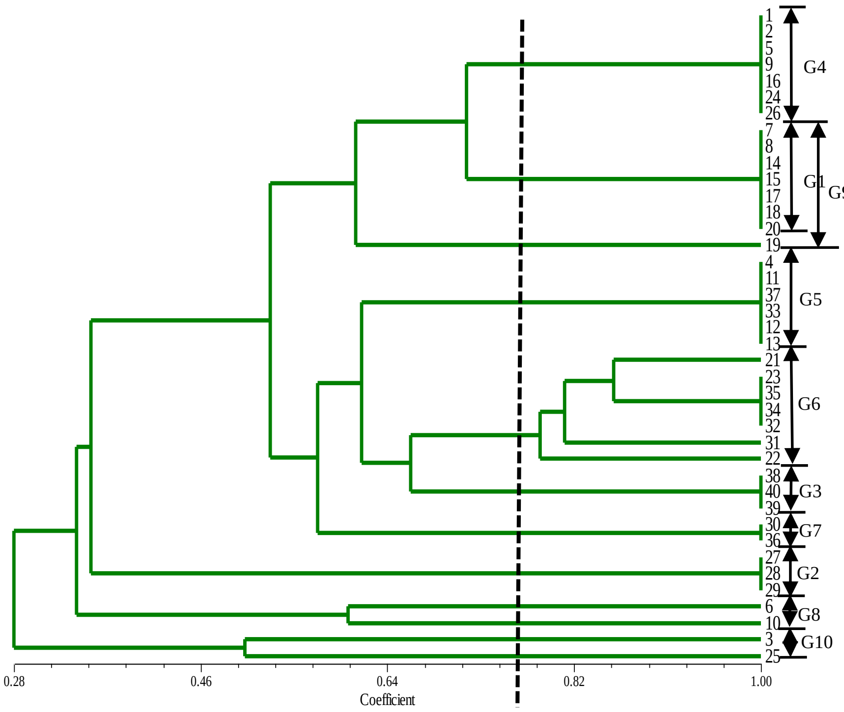
Fig. 6. Electrophoresis of VRN-B3 gene for Vrn4-B-Noins-F and Vrn4-B-Noins-R primers and differentiation of vrn-B3 in bread wheat genotypes. M: 50 bp molecular-weight marker

می‌کند. در هـیچ یـک از ژنوتیپ‌های گنـدم نـان مورد بررسی قطعه موردنظر تکثیر نشـد کـه بیـانگر ایـن اسـت کـه ایـن ژنوتیپ‌هـا بـرای مکـان ژنـی VRN-B3 فاقـد آلـل غالـب هسـتند (جـدول ۴). فقدان آلل غالـب Vrn-B3 در مطالعـه درخشـان و همکـاران (Derakhshan *et al*., 2013) نیـز گزارش شده است، بـه طوری‌کـه از ۳۹۵ ژنوتیـپ مـورد بررسـی، ۳۶۶ ژنوتیـپ مـورد مطالعـه دارای آلـل مغلـوب vrn-B3 و فقـط ۲۹ ژنوتیـپ (۷ درصد) دارای آلل غالب Vrn-B3 بودند.

رابطه تنوع آللی با عادت رشد ژنوتیپ‌های گنـدم نان مورد بررسی در شرایط مزرعه و گلخانه

نتایج حاصل از وجود و عدم وجود بانـدهای حاصل از تکثیر آغازگرها به صـورت داده‌هـای صفر و یک مرتب شد. گروه‌بنـدی ژنوتیپ‌هـای گندم نان با استفاده از ضـریب تشـابه جاکـارد و الگوریتم UPGMA انجام و دندروگرام مربوطه رسم گردید (شـکل۷). ژنوتیپ‌هـای گنـدم نـان مورد مطالعه در ضریب تشـابه ۷۷ درصـد در ۱۲ گـروه مجـزا قـرار گرفتنـد. همچنـین ضـریب کوفنتیـک (r_{coph}) بـین مـاتریس تشـابه و دندروگرام حاصل در حد $r = ۰/۸۶$ بدست آمد کـه نشـان دهنـده همبسـتگی خیلـی خـوب دندروگرام با ماتریس تشابه بود.

گروه اول: شامل ژنوتیپ‌هـای ۷، ۸، ۱۴، ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۰ بـود. طبـق نتـایج ایـن آزمـایش ژنوتیپ‌های این گروه در کلیـه مکان‌هـای ژنـی مـورد مطالعـه دارای آلـل مغلـوب بودنـد کـه براساس یافته‌های پوگسلی (Pugsley, 1971) و اسنیپ و همکـاران (Snape *et al*., 2001) بایـد دارای عادت رشد زمستانه باشـند. ایـن نتیجـه بـا یادداشت‌برداری عـادت رشـد ژنوتیپ‌هـا در دو سـال متـوالی در مزرعـه و بررسـی گلخانـه‌ای هماهنگی داشت (جدول ۴).



شکل ۷- دندروگرام ۴۰ ژنوتیپ گندم نان براساس ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA

Fig.7. Dendrogram of 40 bread wheat genotypes based on Jaccard similarity coefficient and UPGMA algorithm

گروه دوم: متشکل از ژنوتیپ‌های ۲۷، ۲۸ و ۲۹ بود که این گروه دارای ترکیب آللی غالب در کلیه مکان‌های ژنی مورد مطالعه بجز VRN-B3 بود. وجود این ترکیب آللی باعث بهاره شدن عادت رشد می‌شود (Zhang *et al.*, 2008) و نتایج عادت رشد مزرعه‌ای و گلخانه‌ای ژنوتیپ‌های گندم نان مورد مطالعه نیز نشان از عادت رشد بهاره کامل در هر سه ژنوتیپ داشت (جدول ۴).

گروه سوم: شامل ژنوتیپ‌های ۳۸، ۳۹ و ۴۰ است که مطابق بررسی‌های قبلی با ترکیب آللی Vrn-A1b، Vrn-B1 و Vrn-D1 دارای عادت رشد بهاره بودند. نتایج عادت رشد این سه ژنوتیپ در مزرعه و گلخانه موید این نکته بود و هر سه ژنوتیپ در تمام بررسی‌های انجام شده عادت رشدی بهاره کامل داشتند. از این گروه‌بندی می‌توان نتیجه گرفت که قدرت آلل Vrn-A1b در بهاره کردن ژنوتیپ‌ها از لحاظ تاثیر مشابه با آلل Vrn-A1a می‌باشد (جدول ۴).

گروه چهارم: از ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۵، ۹، ۱۶، ۲۴ و ۲۶ تشکیل شد. این ژنوتیپ‌ها دارای ترکیب آللی vrn-A1، vrn-B1 و Vrn-D1 بودند. از این گروه ژنوتیپ‌های شماره ۱ و ۹ دارای عادت رشد زمستانه و سایر ژنوتیپ‌ها دارای عادت رشد بینابین (F) تا بینابین متمایل به زمستانه (Fw) بودند. به عبارت دیگر حضور آلل Vrn-D1 در این

ژنوتیپ‌ها نه تنها منجر به بهاره‌سازی کامل ژنوتیپ‌ها نشد، بلکه گرایش فنوتیپی آنها حتی از حالت بینابین بیشتر به زمستانه متمایل بود تا عادت رشد بهاره. علت تفاوت اندک در نتایج دو عادت رشد در مزرعه و گلخانه در این ژنوتیپ‌ها این است که یادداشت برداری مزرعه در خرداد و یادداشت برداری گلخانه در آخر مهر (پس از سپری شدن روزهای بلند تابستان) انجام شد و ممکن است حساسیت به فتوپریود باعث این تفاوت‌ها شده باشد.

گروه پنجم: شامل ژنوتیپ‌های ۴، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۳۳ و ۳۷ با ترکیب آللی vrn-A1، Vrn-B1 و vrn-D1 بود. در این گروه ژنوتیپ شماره ۴ دارای عادت رشد زمستانه، ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۲ و ۱۳ دارای عادت رشد بینابین متمایل به زمستانه (Fw)، ژنوتیپ ۳۳ دارای عادت رشد بینابین در مزرعه وعادت رشد بهاره در گلخانه و ژنوتیپ ۳۷ دارای عادت رشد بهاره بودند. تفاوت مشاهده شده در عادت رشد ژنوتیپ ۳۳ در شرایط مزرعه و گلخانه می‌تواند مربوط به تاثیر ژن‌های فتوپریود و یا اثر متقابل بین ژن‌های بهاره‌سازی در تظاهر این صفت باشد. در مجموع علی‌رغم اظهارات قبلی مبنی بر بروز فنوتیپ بهاره در حضور یک آلل غالب بهاره‌سازی در هر یک از سه مکان ژنی (Stelmakh, 1993)، نتایج این بررسی نشان داد که حضور آلل غالب Vrn-B1 به تنهایی نمی‌تواند باعث بهاره‌شدن عادت رشد ژنوتیپ‌های گندم نان شود. براساس نتایج فنوتیپی موجود تاثیر این آلل در بهاره‌سازی ژنوتیپ‌ها بیشتر از آلل Vrn-D1 بود و تمایل بیشتر ژنوتیپ‌های این گروه به عادت رشد بینابین و بهاره در مقایسه با گروه چهار نشان دهنده این موضوع است.

گروه ششم: از ژنوتیپ‌های ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۳۱، ۳۲، ۳۴ و ۳۵ با ترکیب آللی vrn-A1، Vrn-B1 و Vrn-D1 تشکیل شد. عادت رشد ژنوتیپ‌های ۲۱، ۳۲ و ۳۵ بهاره و عادت رشد ژنوتیپ‌های ۲۲ و ۲۳ در مزرعه بهاره و در گلخانه بینابین بود که علت آن ممکن است مربوط حساسیت به فتوپریود (Worland and Snape 2001; Dyck *et al.* 2004) در شرایط گلخانه و یا اپیستازی بین مکان‌های ژنی که بر روی ژن‌های بهاره‌سازی اثر متقابل دارند، باشد (Tranquilli and Dubcovsky, 2000). همچنین ژنوتیپ ۳۱ دارای عادت رشد بینابین در مزرعه و گلخانه و ژنوتیپ ۳۴ دارای عادت رشد بهاره در مزرعه و بینابین متمایل به بهاره (Fs) در گلخانه بودند. مشاهدات فنوتیپی مربوط به ژنوتیپ‌های این گروه مبین این نکته است که آلل‌های Vrn-B1 و Vrn-D1 با هم اثر مکمل دارند و فقدان آلل غالب Vrn-A1 را تا حدود زیادی جبران می‌کنند. به نظر می‌رسد که تاثیر اپیستازی تکمیلی این دو آلل بر روی یکدیگر باعث ایجاد طیفی از ژنوتیپ‌ها با عادت رشد بینابین تا بهاره با تمایل بیشتر به سمت عادت رشد بهاره می‌شود (جدول ۴).

گروه هفتم: شامل دو ژنوتیپ ۳۰ و ۳۶ با ترکیب آللی Vrn-A1c، Vrn-B1 و Vrn-D1

بود. ژنوتیپ ۳۶ دارای عادت رشد بهاره و ژنوتیپ ۳۰ دارای عادت رشد بینابین در مزرعه و گلخانه بودند. گروه حاصل از این دو ژنوتیپ با ضریب تشابه ۵۷ درصد به گروه‌های با عادت رشد بهاره تا بینابین مانند گروه‌های ۳، ۵ و ۶ متصل می‌شود. به نظر می‌رسد تمایل به عادت رشد بهاره این ژنوتیپ‌ها ناشی از اثر آلل‌های Vrn-B1 و Vrn-D1 باشد و آلل Vrn-A1c اثر محسوسی در افزایش تظاهر عادت رشد بهاره در این ژنوتیپ‌ها ندارد.

گروه هشتم: با ضریب تشابه ۶۰ درصد بین دو ژنوتیپ ۶ و ۱۰ تشکیل شده و دارای تشابه ژنتیکی بسیار کمی (ضریب تشابه ۳۳ درصد) با سایر گروه‌ها بود. با مراجعه به ترکیب آللی (جدول ۴) می‌توان چنین استنباط کرد که سهم آلل Vrn-A1c در بهاره‌سازی ژنوتیپ شماره ۶ ناچیز بوده و این ژنوتیپ با ژنوتیپ ۱۰ (آلل Vrn-A1n) در یک گروه قرار گرفت. در ژنوتیپ ۶ آلل Vrn-D1 به همراه آلل Vrn-A1c باعث عادت رشد بینابین و در ژنوتیپ ۱۰ آلل Vrn-D1 به همراه آلل Vrn-A1n باعث عادت رشد بهاره درمزرعه و گلخانه شد که نشان دهنده اثر بیشتر آلل نول نسبت به آلل Vrn-A1c در بهاره‌سازی ژنوتیپ‌ها گندم نان مورد بررسی بود. اثر ضعیف آلل Vrn-A1c در بهاره‌سازی ژنوتیپ‌ها گندم نان گروه هفت نیز مشاهده شد. می توان چنین استنباط کرد که سهم این آلل در بهاره‌سازی ژنوتیپ‌ها کمتر از آلل‌های دیگر می‌باشد.

گروه نهم: شامل ژنوتیپ ۱۹ به همراه ژنوتیپ‌های گروه یک با ضریب تشابه ۶۰ درصد بود. شباهت این ژنوتیپ با ترکیب آللی Vrn-A1c، vrn-B1 و vrn-D1 با گروه اوّل که دارای عادت رشد زمستانه بودند مبین این نکته اساسی است که اثر Vrn-A1c در بهاره کردن این ژنوتیپ ناچیز است و این ژنوتیپ دارای عادت رشد زمستانه در مزرعه وگلخانه بود.

گروه دهم: از ژنوتیپ‌های ۳ و ۲۵ تشکیل شد که در ژنوتیپ ۳ به علت داشتن دو آلل مغلوب vrn-B1، vrn-D1 و Vrn-A1n که با پرایمر مربوطه تکثیر نشدند. عادت رشد مزرعه و گلخانه ژنوتیپ ۳ بینابین متمایل به زمستانه (F_W) بود، اما اثر آلل Vrn-A1n باعث بهاره شدن ژنوتیپ ۲۵ در مزرعه و بینابین شدن آن در گلخانه شد. علت تفاوت بین دو عادت رشدی این ژنوتیپ در گلخانه و مزرعه ممکن است به حساسیت به فتوپریود این ژنوتیپ مربوط باشد. جهت تفسیر بهتر نتایج حاصل از عادت رشد در مزرعه و گلخانه به همراه ترکیب آللی به صورت خلاصه در جدول ۵ ارائه شده است.

نتایج این پژوهش نشان داد که تنوع آللی مکان‌های ژنی مربوط به بهاره‌سازی در ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم نان اقلیم های سرد و معتدل تا حدود زیادی متفاوت از یکدیگر بودند. در مکان‌های ژنی VRN-A1، VRN-B1 و VRN-D1 بترتیب ۱۶، ۱۶ و ۱۳ ژنوتیپ

جدول ۵- رابطه ترکیب آللی ژن های بهاره سازی با عادت رشد در مزرعه/گلخانه ۴۰ ژنوتیپ گندم نان

Table 5. Relationship of allelic composition of vernalization genes with field/glasshouse-based growth habit of 40 bread wheat genotypes

مکان ژنی بهاره سازی Vernalization locus	Allele آلل	W (G1)	F_W (G4)	F_W (G9)	F_W (G5)	F_W (G10)	F_W (G8)	F (G6)	F_S (G7)	S (G3)	S (G2)
VRN-A1	Vrn-A1a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Vrn-A1b	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Vrn-A1c	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
	Vrn-A1n	0	0	0	0	1	0-1*	0	0	0	0
	vrn-A1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
VRN-B1	Vrn-B1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1
	vrn-B1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
VRN-D1	Vrn-D1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1
	vrn-D1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
VRN-B3	Vrn-B3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	vrn-B3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

S: True spring — S: بهاره کامل

W: True winter — W: زمستانه کامل

F: Facultative — F: بینابین

F_S: Facultative with tendency to spring growth habit — F_S: بینابین متمایل به عادت رشد بهاره

F_W:Facultative with tendency to winter growth habit — F_W: بینابین متمایل به عادت رشد زمستانه

* آلل Vrn-A1c در ژنوتیپ شماره ۶ و آلل Vrn-A1n در ژنوتیپ شماره ۱۰ مشاهده شدند.

* Allele Vrn-A1c and Vrn-A1n were observed in genotypes 6 and 10, respectively.

امیدبخش گندم نان اقلیم سرد دارای آلل‌های مغلوب بودند (جدول ۴). با توجه به اینکه وجود آلل‌های مغلوب در هر سه مکان ژنی هومیولوگ منجر به عادت رشد زمستانه می‌شود، فراوانی بالای آلل‌های مغلوب در مکان‌های ژنی مربوط به بهاره‌سازی در اقلیم سرد کشور نشان دهنده انتخاب موثر لاین‌ها برای این صفت مهم در فرایند برنامه به نژادی است.

بالعکس، ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم نان اقلیم معتدل دارای آلل‌های غالب بیشتری در مکان‌های ژنی مربوطه بودند، بطوری که برای مکان‌های ژنی VRN-A1، VRN-B1 و VRN-D1 بترتیب ۹، ۱۷ و ۱۷ ژنوتیپ دارای آلل غالب بودند (جدول ۴). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که اکثر ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم نان در اقلیم معتدل دارای ترکیبی از آلل‌های غالب با القای عادت رشد بهاره می‌باشند. این نتیجه نیز نشان می‌دهد که در برنامه‌های به نژادی گندم نان برای اقلیم معتدل کشور انتخاب لاین‌ها برای عادت رشد به نحو موثری انجام شده است.

با توجه به نتایج حاصل از گروه‌بندی برای ارزیابی عادت رشد گندم در مزرعه به نظر می‌رسد که بهتر است تعداد گروه‌های فنوتیپی برای عادت رشد از سه گروه بهاره، بینابین و زمستانه به گروه‌بندی‌هایی با تعداد گروه بیشتر تغییر یابد. بدیهی است که با زیاد شدن تعداد گروه ها برای عادت رشد ارزیابی های فنوتیپی برای این صفت از حالت کیفی به حالت کمّی متمایل خواهد شد. با افزایش مکان‌های ژنی مؤثر در کنترل عادت رشد در مزرعه، اثر متقابل بین این مکان‌ها بیشتر می شود و تعداد گروه‌های ناشی از تظاهر این صفت نیز بیشتر خواهند شد.

نتایج این پژوهش نشان داد که برخلاف مطالعات قبلی حضور یک آلل غالب در مکان ژنی VRN-1 به طور ۱۰۰ درصد باعث عادت رشد بهاره نمی‌شود و شدت بهاره شدن ژنوتیپ‌های گندم نان بستگی به حضور آلل غالب در مکان ژنی کروموزوم هومیولوگ مربوطه دارد. به طوری‌که از لحاظ قدرت تاثیر آلل‌های بهاره‌سازی کروموزوم‌های هومیولوگ در گندم نان رابطه VrnA1>VrnB1>VrnD1 برقرار می‌باشد (Zhang *et al.*, 2008). نتایج این پژوهش نشان داد که در مکان ژنی VrnA1 نیز آلل‌های متفاوت در این مکان دارای قدرت تاثیر متفاوتی بر روی تظاهر صفت بهاره‌سازی بودند و در این مکان ژنی رابطه VrnA1a=VrnA1b>VrnA1n>VrnA1c برقرار است. براساس نتایج این بررسی آلل‌های Vrn-A1a و VrnA1b مکان ژنی VRN-A1 نسبت به سایر آلل‌های این مکان ژنی نقش مهم‌تری در بهاره شدن ژنوتیپ‌ها ایفا می کنند.

با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان در برنامه های به نژادی گندم نان با تجمیع ترکیب مناسبی از آلل‌های اختصاصی VRN، امکان

دستیابی به ژنوتیپ‌هایی با عادت رشدی موردنظر را افزایش داد. اطلاعات حاصل از این پژوهش همچنین می‌تواند به به نژادگران گندم نان کمک نماید تا ژنوتیپ‌هایی با ترکیب آللی مناسب با شرایط اقلیمی مناطق هدف را انتخاب نمایند. این امر بویژه می‌تواند در برنامه به‌نژادی گندم نان برای مناطق سردسیر کشور که اولویت به نژادگران بر انتخاب ژنوتیپ‌های زمستانه است، مفید واقع شود.

سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از مدیریت بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و همچنین از زحمات آقای دکتر محسن سرهنگی که اجرای این پژوهش بدون کمک ایشان امکان‌پذیر نبود سپاسگزاری می کنند. این پژوهش با کمک مالی شماره ۰۰/۱۰۹۱۰ ستاد توسعه زیست فناوری انجام شد.

References

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. R., Hatami, F., Abdolshah, H., and Kazemian, A. 2020. Agricultural statistics: 2018-19. Cropping cycle. 1st volume. Field crops. Information and Communication Technology Center. Deputy of Planning and Economy. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 97 pp. (in Persian)

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. R., Hatami, F., Mohamadnia Afroozi, Sh., Esfandiari Pour, E., and Abass Taleghani., R. 2021. Agricultural statistics: 2019-20 Cropping cycle. 1st volume. Field crops. Information and Communication Technology Center. Deputy of Planning and Economy. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 97 pp. (in Persian).

Anonymous. 2022. Agricultural insurance fund. Agriculture bank of Iran. Available on: http://www.sbkiran.ir/news/2578. (in Persian).

Chen, F., Gao, M., Zhang, J., Zuo, A., Shang, X., and Cui, D. 2013. Molecular characterization of vernalization and response genes in bread wheat from the yellow and Huai valley of China. BMC Plant Biology 13 (1): 199 DOI: https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-199.

Danyluk, J., Kane, N. A., Breton, G., Limin, A. E., Fowler, D. B., and Sarhan, F. 2003. Ta *VRT-1*, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. Plant Physiology 132 (4): 1849-1860.

Derakhshan, B., Mohammadi, S. A., Moghaddam, M., and Jalal Kamali, M. R. 2013. Molecular characterization of vernalization genes in Iranian wheat landraces.

Crop Breeding Journal 3 (1): 1-11.

Dennis, E. S., and Peacock, W. J. 2009. Vernalization in cereals. Journal of Biology 8 (6): 57. https://doi.org/10.1186/jbiol156.

Distelfeld, A., Li, C., and Dubcovsky, J. 2009. Regulation of flowering in temperate cereals. Plant Biology 12: 178-184.

Dyck, J. A., Matus-cadiz, M. A., Hucl, P., Talbert, L., Hunt, T., Dubuc, J. P., Nass, H., Clayton, G., Dobb, J., and Quick, J. 2004. Agronomic performance of hard red spring wheat isolines sensitive and insensitive to photoperiod. Crop Science 44: 1976-1981

Enghiad, A., Ufer, D., Countryman, A. M., and Thilmany, D. D. 2017. An overview of global wheat market fundamentals in an era of climate concerns. International Journal of Agronomy: 1-15. https://doi.org/10.1155/2017/3931897.

FAO, 2020. FAOStatistics. 2020. Food and Agrculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. Available at: https://www.fao.org/faostat/en/

Fu, D., Szűcs, P., Yan, L., Helguera, M., Skinner, J. S., Von Zitzewitz, J., Hayes, P. M., and Dubcovsky, J. 2005. Large deletions within the first intron in *VRN-1* are associated with spring growth habit in barley and wheat. Molecular Genetics and Genomics 273 (1): 54-65.

Hemming, M. N., Fieg, S., Peacock, W. J., Dennis, E. S., and Trevaskis, D. 2009. Regions associated with repression of the barley (*Hordeum vulgare*) vernalization1 gene are not required for cold induction. Molecular Genetics and Genomics 282: 107-117.

Iqbal, M., Shahzad, A., and Ahmed, I. 2011. Allelic variation at the *Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1, Vrn-B3* and *Ppd-D1a* loci of Pakistani spring wheat cultivars. Electronic Journal of Biotechnology 14 (1): 1-8.

Kiss, T., Balla, K., Veisz, O., Lang, L., Bedo, Z., Griffiths, S., Isaac, P., and Karsai, I. 2014. Allele frequencies in the *VRN-A1*, *VRN-B1* and *VRN-D1* vernalization response and *PPD-B1* and *PPD-D1* photoperiod sensitivity genes, and their effects on heading in a diverse set of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Molecular Breeding 34: 297-310.

Lozada, D. N., Carter, A. H., Esten, R., and Mason, R. 2021. Unlocking the yield potential of wheat: influence of major growth habit and adaptation genes. Crop Breeding, Genetics and Genomics 3 (2): 1-28

McIntosh, R. A., Dubcovsky, J., Rogers, W. J., Xia, X. C., and Raupp, W. J. 2020. Catalogue of gene symbols for wheat (supplement). Annual Wheat Newsletter 66: 1-20.

Mohammadfam, M., Gholkari, S., and Sadeghzade, B., 2016. Molecular characterization of allelic variation at the *VRN-1* and *VRN-B3* loci controlling vernalization requirement in wheat genotypes based on polymorphism in the promoter and intron regions. Iranian Journal of Dryland Agriculture 5 (2): 185-201 (in Persian).

Mohammadi, M., Torkamaneh, D., and Mehrazar, E. 2012. Molecular examination and genotype diversity of vernalization sensitivity and photoperiod response in old and modern bread wheat cultivars grown in Iran. Journal of Crop Science and Biotechnology 15 (4): 259-265.

Nazari, M., Zeinalinezhad, Kh., Navabpour, C., Soltanloo, H., and Pahlavani, M. H. 2018. Use of specific allele markers in identifying *VRN-1* gene loci alleles in bread wheat genotypes. Journal of Crop Breeding 32: 133-143 (in Persian).

Nowak, M., and Kowalczyk, K. 2010. Allelic variation at the *VRN-1* locus of polish cultivars common wheat (*Triticum aestivum* L.). Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 52 (2): 86-91

Pugsley, A. T. 1971. A genetic analysis of the spring-winter habit of growth in wheat. Crop and Pasture Science 22 (1): 21-31.

Sadeghian Motahar, Y., Mozafari, J., Jalal Kamali, M. R., Dehghani Shoraki, Y., Ahmadi, M. R., Hassani, D., Shafaadin, S., Khaksar, K., Jazaieri, M. R., Najafian, G., and Esmaeilzadeh Moghaddam, M. 2007. National guidelines for tests of distinctness, uniformity and stability in bread wheat. Seed and Plant Certification and Registration Institute. 53 pp. (in Persian).

Saghai-Maroof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen R, A., and Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA spacer -length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 81: 8014-8019.

Saibo, N. J., Lourenco, T., and Oliveira, M .2009. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. Annals of Botany 103 (4): 609-623

Snape, J. W., Butterworth, K., Whitechurch, E., and Worland, A. J. 2001. Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. Euphytica 119 (1-2): 185-190

Stelmakh, A. F. 1993. Genetic effects of *Vrn* genes on heading date and agronomic traits in bread wheat. Euphytica 65: 53-60.

Sung, S., and Amasino, R. M. 2004. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. Current Opinion in Plant Biology 7 (1): 4-10.

Tranquilli, G., and Dubcovsky, J. 2000. Epistatic interaction between vernalization genes *Vrn-Am1* and *Vrn-Am2* in diploid wheat. Journal of Heridity 91 (4): 304-306.

Trevaskis, B., Hemming, M. N., Dennis, E. S., and Peacock, W. J. 2007. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals. Trends in Plant Science 12 (8): 352-357.

Trevaskis, B. 2010. The central role of the VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals. Functional Plant Biology 37 (6): 479-487.

Worland, A. J., and Snape, J. W. 2001. Genetic basis of worldwide wheat varietal improvement. In: pp. 61-67. Bonjean, A. P. Angus, W. J. (eds.). The world wheat book: A history of wheat breeding. Lavoisier Publishing, Paris, France.

Yan, L., Loukoianov, A., Tranquilli, G., Helguera, M., Fahima, T., and Dubcovsky, J. 2003. Positional cloning of the wheat vernalization gene *VRN1*. Proceedings of the National Academy of Science of America 100 (10): 6263-6268.

Yan, L., Loukoianov, A., Blechl, A., Tranquilli, G., Ramakrishna, W., Sanmiguel, P., Bennetzen J. L., Echenique V., and Dubcovsky, J. 2004a. The wheat *VRN2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. Science 303 (5664): 1640-1644.

Yan, L., Helguera, M., Kato, K., Fukuyama, S., Sherman, J., and Dubcovsky, J. 2004b. Allelic variation at the *VRN-1* promoter region in polyploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 109 (8): 1677-1686.

Yan, L., Fu, D., Li, C., Blechl, A., Tranquilli, G., Bonafede, M., Sanchez, A., Valarik, M., Yasuda, S., and Dubcovsky, J. 2006. The wheat and barley vernalization gene *VRN3* is an orthologue of *FT*. Proceedings of the National Academy of Sciences of America 103 (51): 19581-19586.

Zaitseva, O. I., and Lemesh, V. A. 2015. Allelic composition in the *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, and *Vrn-B3* genes of double haploid lines of hexaploid triticale. Russian Journal of Genetics 51: 653-660.

Zhang, X. K., Xiao, Y. G., Zhang, Y., Xia, X. C., Dubcovsky, J., and He, Z. H. 2008. Allelic variation at the vernalization genes, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*, and *Vrn-B3* and in Chinese wheat cultivars and their association with growth habit. Crop Science 48 (2): 458-470.